

VARIAÇÃO SAZONAL DE TANINOS HIDROLIZÁVEIS EM FOLHAS DE *Eugenia uniflora*

SANTOS, ROSA MARIA¹; SANTOS, SUZANA DA COSTA²

Palavras-chave: *Eugenia uniflora*, taninos, sazonalidade.

1. INTRODUÇÃO

O cerrado brasileiro, com sua biodiversidade, é fonte de muitas espécies vegetais que naturalmente exercem uma forte influência na medicina popular. A *Eugenia uniflora* é uma dessas espécies usada tradicionalmente, o decocto ou infusão das folhas são empregados para curar várias doenças. Pesquisas recentes, utilizando testes *in vitro* e *in vivo*, demonstraram que a *Eugenia uniflora* possui várias atividades farmacológicas, tais como: ação antiinflamatória e analgésica (Schapoval et al., 1994), ação antidiarreica pela inibição do trânsito gastrointestinal, aumento da absorção de água em partes do intestino e aumento nas contrações do músculo duodenal (Schapoval et al., 1994; Almeida et al., 1995; Gbolare et al., 1996), ação carminativa (Lee et al., 1997), atividade hipotensora devido à ação vasodilatadora de vasos resistentes e aumento da diurese (Morioka et al., 2000; Consolini e Sarubio, 2002), inibição do aumento de glicose e triglicerídeos plasmáticos (Arai et al., 1999), atividade antidiabética que está relacionada com a inibição da alfa-glucosidase pelas uniflorinas isoladas do extrato aquoso de folhas (Matsurura et al., 2000), atividade antiviral (Lee et al., 2000), ação tripanosomicida (Adewunmi et al., 2001), ação contra infecções intestinais causadas por *S. aureus* e *E. coli* (Holetz et al., 2002), ação antifúngica (Souza et al., 2002), tratamento de diabetes e gota (Auricchio et al., 2003), ação antioxidante (Velazquez et al., 2003) e ação antifúngica contra *Paracoccidioides brasilienses* (Santos et al., 2004). O presente trabalho tem como objetivo principal avaliar a variação sazonal na produção de taninos que foi investigada de dezembro de 2001 até dezembro de 2003 com coletas mensais. Pelo seu emprego no tratamento de várias doenças torna-se importante o estudo da variação da concentração deste composto durante o ano. Fatores como condições climáticas, afetam a composição química das plantas, como forma de defesa das mesmas frente a agressões pelo ambiente à sua volta. O conhecimento da sazonalidade destas plantas permite uma maior eficiência e o controle de qualidade do seu uso como fitoterápico. Queremos saber qual a melhor época do ano para coletar essas plantas, tendo em vista o rendimento e possíveis ganhos para o seu princípio ativo.

2. METODOLOGIA

2.1 Material botânico

As folhas de *Eugenia uniflora* foram coletadas mensalmente em Anápolis no período de dezembro de 2001 a dezembro de 2003, totalizando 25 meses. As folhas foram secadas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz solar, moídas em moinho de

faca com granulação definida e conservadas em freezer a -18°C até o momento do uso. O extrato foi preparado com 10g de folhas de cada mês com solvente 70% de acetona aquosa 4X 50mL. Os extratos tiveram o solvente orgânico evaporado em rotaevaporador, o precipitado contendo clorofilas e graxas foi separado por filtração e a água restante foi liofilizada. O extrato liofilizado foi dosado para Fenóis Totais, Precipitação de Proteínas (adstringência), Taninos Hidrolizáveis e Flavonóides

2.2 Doseamentos

a. Fenóis Totais – Método de Hagerman-Butler (Mole & Waterman,1987). Neste método todos os fenóis são dosados via complexação desses com cloreto férrico e produção de coloração.

b. Precipitação de Proteínas (adstringência) – Método de Hagerman-Butler (Waterman & Mole,1994). Taninos são complexados com a albumina bovina sérica, após separação do precipitado por centrifugação este é dissolvido com detergente e os taninos são dosados com cloreto férrico.

c. Taninos Hidrolizáveis – Método do iodato de potássio (Willis & Allen, 1998). Taninos hidrolizáveis formam complexo colorido com solução aquosa de KIO_3 a 2,5%, essa coloração é medida a 550nm.

d. Flavonóides Totais – Os flavonóides são complexados com cloreto de alumínio e a absorção é lida a 397nm, utilizando amostra não complexada como branco (Petry et al.,1998).

Para cada método foram usados padrões específicos para confecção de curvas padrão e cada ensaio foi repetido três vezes.

2.3 Dados climáticos

Os dados de precipitação (mm), umidade relativa do ar (%) e temperatura média ($^{\circ}\text{C}$) foram obtidos na Base Aérea de Anápolis.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rendimentos obtidos nas extrações estão apresentados na tabela abaixo junto com os resultados dos doseamentos (média dos três ensaios e respectivo desvio padrão). A partir da tabela pode-se observar que no processo de extração os meses de julho e agosto (2002 e 2003) apresentaram os maiores rendimentos nos dois anos analisados, enquanto os meses de janeiro/02 e setembro/03 foram os de menores rendimentos. Os resultados dos teores de fenóis totais, taninos e flavonóides foram plotados no gráfico 2, onde observa-se que ocorrem flutuações desses componentes em épocas distintas do ano. Nos meses de dezembro/02 e janeiro/03 a planta sintetizou as maiores quantidades de fenóis, tanto taninos hidrolizáveis como flavonóides, comparando-se com os outros meses. Nesses meses também ocorreu a maior quantidade de precipitação em relação a todo o período das coletas (gráfico 1). No mês de julho/02 também ocorreu um máximo nos teores de polifenóis, coincidindo com o período mais seco, havendo depois uma queda com mínimo em novembro/02, quando a árvore estava em plena frutificação (gráfico 2). É interessante notar que ocorrem máximos tanto no período chuvoso quanto no período de seca, o que significa que não são apenas os fatores climáticos que estão influenciando na produção destes metabólitos secundários, outros fatores tais como floração, frutificação e ataque herbívoros e patógenos podem também estar contribuindo para a variação na síntese destas substâncias.

Ainda serão realizadas análises de metais nas folhas, os resultados tanto dos doseamentos quanto dos metais serão correlacionados com os fatores climáticos, através de análise multivariada utilizando-se o pacote estatístico SPAD.N (Système Portable d'Analyse des Données Numériques).

Amostra	Rendimento extrato %	Fenóis totais	Precipitação de proteínas	Taninos hidrolisáveis	Flavonóides totais
dez/01	13,88	52,59 (1,35)	20,97 (0,31)	83,31 (0,41)	1,52 (0,01)
jan/02	11,77	54,13 (0,79)	26,77 (0,09)	80,80 (0,42)	2,43 (0,01)
fev/02	15,56	58,86 (1,36)	24,79 (0,05)	89,65 (0,91)	1,91 (0,04)
mar/02	14,66	58,12 (0,45)	24,63 (0,22)	80,81 (0,25)	2,26 (0,02)
abr/02	16,40	62,04 (0,47)	25,58 (0,19)	91,03 (0,33)	2,34 (0,0)
mai/02	20,23	85,17 (1,71)	33,97 (0,40)	108,85 (0,83)	2,92 (0,36)
jun/02	20,05	77,98 (0,91)	36,39 (0,27)	118,72 (0,11)	2,76 (0,04)
jul/02	23,06	87,98 (1,37)	42,61 (0,20)	135,37 (1,55)	4,08 (0,04)
ago/02	24,52	90,32 (1,03)	32,08 (0,09)	121,88 (0,68)	3,15 (0,01)
set/02	20,53	81,52 (0,72)	35,97 (0,45)	121,87 (0,62)	4,30 (0,05)
out/02	19,64	77,89 (1,27)	30,10 (0,20)	104,45 (0,65)	4,89 (0,06)
nov/02	14,87	62,92 (1,74)	29,23 (0,30)	90,96 (0,60)	2,20 (0,03)
dez/02	23,92	101,88 (0,81)	52,22 (0,21)	156,40 (1,18)	5,00 (0,03)
jan/03	22,95	105,34 (0,51)	49,61 (0,26)	149,13 (0,21)	4,49 (0,02)
fev/03	20,49	96,10 (1,72)	41,60 (0,10)	124,72 (0,32)	3,12 (0,05)
mar/03	20,68	89,47 (0,62)	36,17 (0,23)	119,19 (0,59)	4,46 (0,04)
abr/03	21,14	96,51 (1,09)	43,14 (0,49)	125,40 (1,76)	4,07 (0,04)
mai/03	21,91	80,92 (1,09)	28,36 (0,07)	117,08 (0,51)	3,83 (0,03)
jun/03	20,68	77,36 (0,67)	31,02 (0,16)	107,43 (0,19)	2,40 (0,01)
jul/03	23,67	97,69 (0,98)	37,79 (0,26)	125,32 (0,82)	3,44 (0,04)
ago/03	24,05	79,03 (0,93)	31,30 (0,06)	118,08 (0,38)	4,15 (0,02)
set/03	11,80	47,86 (0,76)	17,13 (0,14)	67,97 (0,30)	2,01 (0,02)
out/03	16,44	79,72 (0,42)	29,56 (0,05)	106,79 (0,30)	3,65 (0,03)
nov/03	17,16	80,66 (0,35)	35,70 (0,06)	104,73 (0,35)	2,31 (0,01)
dez/03	19,89	93,37 (0,83)	40,04 (0,170)	113,75 (1,26)	3,25 (0,02)

*resultados em ácido tânico equivalente mg/g de folha seca.

** resultados em rutina equivalente mg/g de folha seca.

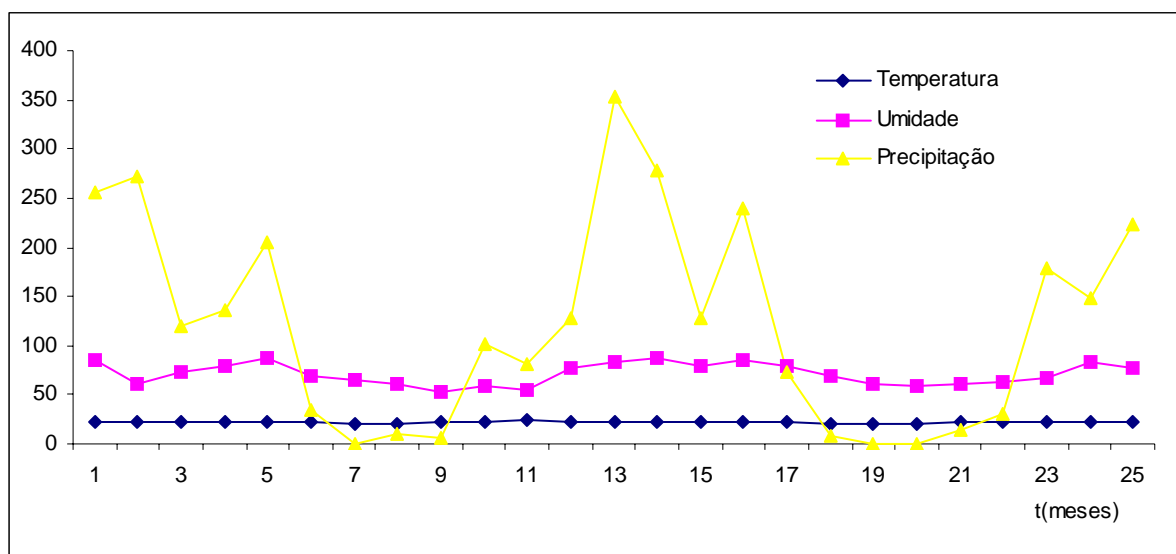


Gráfico 1 - Fatores climáticos durante o período das coletas.

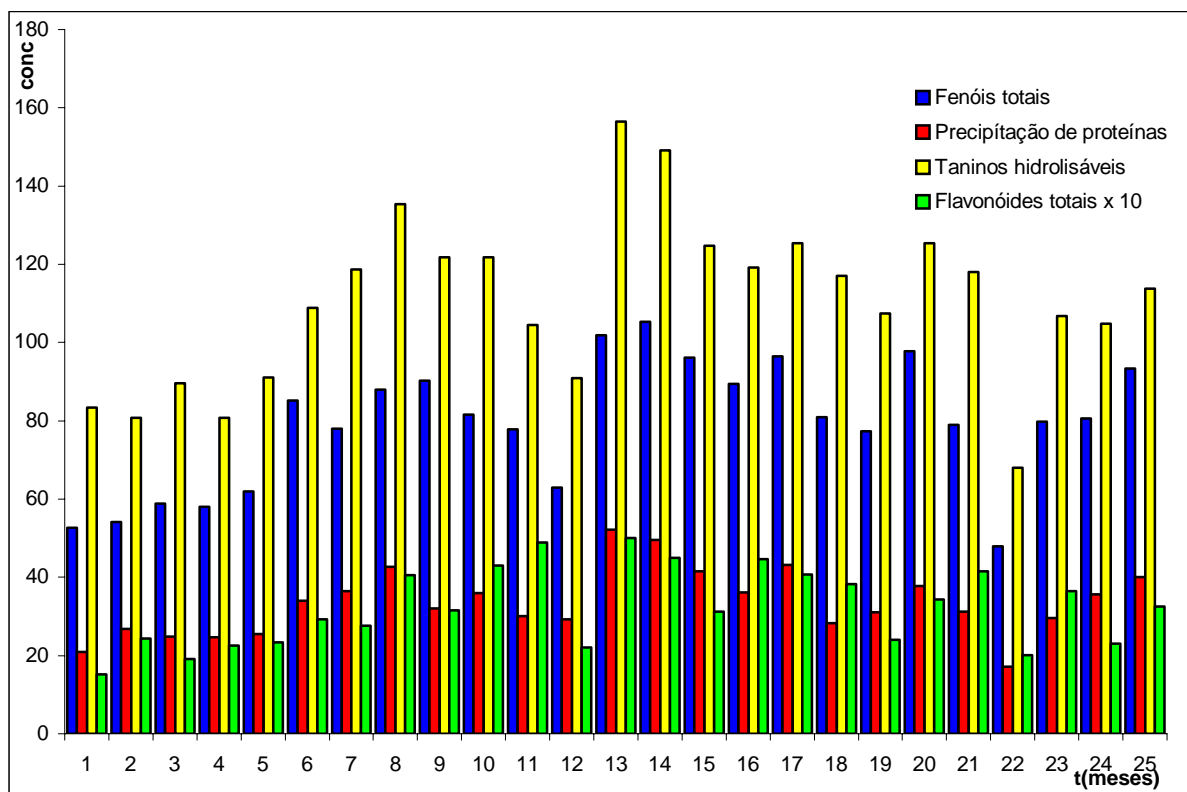


Gráfico 2- Teores de FT, taninos e flavonóides nas 25 amostras.

4. CONCLUSÃO

Apesar dos resultados ainda serem parciais já podemos concluir que houve uma flutuação nos teores das substâncias fenólicas, o que mostra que esta espécie possui um metabolismo dinâmico e mesmo em períodos de seca, onde outras plantas entram em dormência, ela continua sintetizando altos teores de metabólitos secundários. Interessante notar que nos meses de mais chuva houve maior produção dos polifenóis o que indica uma relação entre fatores climáticos e a biossíntese destes compostos. Entretanto, outros fatores também devem ser avaliados para que se possa compreender o papel destas substâncias na adaptação desta planta ao meio que a cerca.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADWUNMI, C.O; AGBEDAHUNSI, J.M.; ADEBAJO, A.C.; ALDESANMI, A.J.; MURPHY, N.; WANDO, J. Ethno-veterinary medicine: screening of Nigerian medicinal plants for trypanocidal properties. *Journal of Ethnopharmacology* 77, p.19-24, 2001.
- ALMEIDA, C.E.; KARNIKOWSKI, M.G.O.; FOLETO, R.; BALDISSEROTTO, B. Analysis of antidiarrhoeic effect of plants used in popular medicine. *Revista de Saúde Pública* 29, p.428-433, 1995.
- ARAI, I.; AMAGAYA, S.; KOMATSU, Y.; OKADA, M.; HAYASHI,T.; KASAI, M.; ARISAWA, M.; MOMOSE, Y. Improving effects of the extracts from *Eugenia uniflora* on hyperglycemia and hypertriglyceridemia in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 68, p.307-314, 1999.
- AURICCHIO, M.T; BACCHI, E.M. Folhas de *Eugenia uniflora* L.(pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. *Revista Instituto Adolfo*

Lutz 62, p.55-61, 2003.

CONSOLINI, A.E.; SARUBBIO, M.G. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart. *Journal of Ethnopharmacology* 81, p.57-63, 2002.

GBOLADE, A.A; ILESANMI, O.R.; ALADESANMI, A.J. The contractile effects of the extracts of *Eugenia uniflora* on isolated rat duodenum. *Phytotherapy Research* 10, p.613-615, 1996.

HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS, B.P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicina for the Treatment of Infections Diseases. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol.97, p.1027-1031, 2002.

LEE, M-H.; CHIOU, J-F.; YEN, K-Y. EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*. *Cancer letters* 154, p.131-136,2000.

LEE, M-H.; NISHIMOTO, S.; YANG, L-L.; YEN, K-Y.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Two macrocyclic hydrolysable tannin dimmers from *Eugenia uniflora*. *Phytochemistry*, V.44, n°7, p.1343-1349, 1997.

MATSUMURA, T., KASAI, M.; HAYASHI, T.; ARIAWA, M.; MOMOSE, Y.; ARAI, I.; MAGAYA,S.; KOMATSU,Y. alpha- Glucosidase inhibitors from Paraguayan natural medicine, Nangapiry, the leaves of *Eugenia uniflora*. *Pharmaceutical Biology* 38, p.302-307, 2000.

MOLE, S.; WATERMAN, P. G. A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies II. Techniques for biochemically defining tannins. Berlin, v.72, p.148 – 156, 1987.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. Analysis of phenolic plant metabolites. Ed.Blackwell Scientific Publications. p.66-103 ,1994.

MORIOKA, K.; NOJIMA, H.; KUROSAK, F.; ARISAWA, M.; KURAISHI, Y.; MOMOSE, Y. Hypotensive action of Nanapiry, a Paraguayan natural medicine in rodents. *Phytomedicine* 7, p.99-103, 2000.

SANTOS, S.C.; RIBEIRO, J.P.; GUIMARÃES, D.O.; SILVA, M.O.; FERI, P.H.; GARCIA,A. C.F.; PIRES, J.S.; CASTRO, A.C.M.; SILVA, M.R.R.; PAULA, J.R. Antifungal activity of *Eugenia uniflora* L. fractions against *Paracoccidioides brasiliensis* (Splendore) Almeida. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, V.7 n°1, p.30-33, 2004.

SCHAPOVAL, E.E.S.; SILVEIRA, S.M.; MIRANDA, M.L.; ALICE C.B. HENRIQUES,A.T. Evaluation of some pharmacological activis of *Eugenia uniflora* L.. *Journal of Ethnopharmacology* 44, p.137-142, 1994.

SOUZA, L.K.H.E.; OLIVEIRA, C.M.A.; FERI, P.H.; SANTOS, S.C.; OLIVEIRA, J.G.; MIRANDA, A.T.B.; LIAO, L.M.; SILVA, M.D.R. Antifungal properties of Brazilian cerrado plants. *Brazilian Journal of Microbiology* 33, p.247-249, 2002.

¹ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFG, rosayou@ig.com.br

² Orientadora/Instituto de Química/ UFG, suzana@quimica.ufg.br